

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT



INTERNATIONALER VORLÄUFIGER BERICHT ÜBER DIE PATENTIERBARKEIT

(Kapitel II des Vertrags über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens)

REC'D 03 JAN 2006

WIPO

PCT

| | | |
|---|--|--|
| Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts P66669 | WEITERES VORGEHEN siehe Formblatt PCT/PEA/416 | |
| Internationales Aktenzeichen PCT/EP2004/008865 | Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 06.08.2004 | Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 06.08.2003 |
| Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12N5/08, A61K35/28 | | |
| Anmelder UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF et al. | | |
| <p>1. Bei diesem Bericht handelt es sich um den internationalen vorläufigen Prüfungsbericht, der von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde nach Artikel 35 erstellt wurde und dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt wird.</p> <p>2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 5 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.</p> <p>3. Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; diese umfassen</p> <p>a. <input checked="" type="checkbox"/> (an den Anmelder und das Internationale Büro gesandt) insgesamt 1 Blätter; dabei handelt es sich um</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Blätter mit der Beschreibung, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit Berichtigungen, denen die Behörde zugestimmt hat (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsvorschriften).</p> <p><input type="checkbox"/> Blätter, die frühere Blätter ersetzen, die aber aus den in Feld Nr. 1, Punkt 4 und im Zusatzfeld angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde eine Änderung enthalten, die über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgeht.</p> <p>b. <input type="checkbox"/> (nur an das Internationale Büro gesandt) insgesamt (bitte Art und Anzahl der/des elektronischen Datenträger(s) angeben), der/die ein Sequenzprotokoll und/oder die dazugehörigen Tabellen enthält/enhalten, nur in computerlesbarer Form, wie im Zusatzfeld betreffend das Sequenzprotokoll angegeben (siehe Abschnitt 802 der Verwaltungsvorschriften).</p> | | |
| <p>4. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Feld Nr. I Grundlage des Bescheids</p> <p><input type="checkbox"/> Feld Nr. II Priorität</p> <p><input type="checkbox"/> Feld Nr. III Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit</p> <p><input type="checkbox"/> Feld Nr. IV Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Feld Nr. V Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung</p> <p><input type="checkbox"/> Feld Nr. VI Bestimmte angeführte Unterlagen</p> <p><input type="checkbox"/> Feld Nr. VII Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung</p> <p><input type="checkbox"/> Feld Nr. VIII Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung</p> | | |
| Datum der Einreichung des Antrags 02.03.2005 | Datum der Fertigstellung dieses Berichts 03.01.2006 | |
| Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde  Europäisches Patentamt - P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas Tel. +31 70 340 - 2040 Tx: 31 651 epo nl Fax: +31 70 340 - 3016 | Bevollmächtigter Bediensteter Teyssier, B Tel. +31 70 340-2062  | |

Feld Nr. I Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der **Sprache** beruht der Bericht auf der internationalen Anmeldung in der Sprache, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.
- ☐ Der Bericht beruht auf einer Übersetzung aus der Originalsprache in die folgende Sprache, bei der es sich um die Sprache der Übersetzung handelt, die für folgenden Zweck eingereicht worden ist:
- ☐ internationale Recherche (nach Regeln 12.3 und 23.1 b))
 - ☐ Veröffentlichung der internationalen Anmeldung (nach Regel 12.4)
 - ☐ internationale vorläufige Prüfung (nach Regeln 55.2 und/oder 55.3)
2. Hinsichtlich der **Bestandteile*** der internationalen Anmeldung beruht der Bericht auf (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt*):

Beschreibung, Seiten

1-18 in der ursprünglich eingereichten Fassung

Ansprüche, Nr.

1-7 eingegangen am 04.10.2005 mit Schreiben vom 04.10.2005

Zeichnungen, Blätter

1-8 in der ursprünglich eingereichten Fassung

☐ einem Sequenzprotokoll und/oder etwaigen dazugehörigen Tabellen - siehe Zusatzfeld betreffend das Sequenzprotokoll

3. ☐ Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:
- ☐ Beschreibung: Seite
 - ☐ Ansprüche: Nr.
 - ☐ Zeichnungen: Blatt/Abb.
 - ☐ Sequenzprotokoll (*genaue Angaben*):
 - ☐ etwaige zum Sequenzprotokoll gehörende Tabellen (*genaue Angaben*):
4. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der diesem Bericht beigelegten und nachstehend aufgelisteten Änderungen erstellt worden, da diese aus den im Zusatzfeld angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2 c)).
- ☐ Beschreibung: Seite
 - ☐ Ansprüche: Nr.
 - ☐ Zeichnungen: Blatt/Abb.
 - ☐ Sequenzprotokoll (*genaue Angaben*):
 - ☐ etwaige zum Sequenzprotokoll gehörende Tabellen (*genaue Angaben*):

* Wenn Punkt 4 zutrifft, können einige oder alle dieser Blätter mit der Bemerkung "ersetzt" versehen werden.

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER BERICHT
ÜBER DIE PATENTIERBARKEIT**

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2004/008865

Feld Nr. V Begründete Feststellung nach Artikel 35 (2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung
- | | |
|--------------------------------|---------------------|
| Neuheit (N) | Ja: Ansprüche 1-7 |
| | Nein: Ansprüche - |
| Erfinderische Tätigkeit (IS) | Ja: Ansprüche - |
| | Nein: Ansprüche 1-7 |
| Gewerbliche Anwendbarkeit (IA) | Ja: Ansprüche: 1-7 |
| | Nein: Ansprüche: - |

2. Unterlagen und Erklärungen (Regel 70.7):

siehe Beiblatt

Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

- D1 WO 97/40137 A (Osiris Therapeutics, Inc.) 30. Oktober 1997
- D2 US 5,965,436 A (Thiede M. A. & Marshak D. R.) 12. Oktober 1999
- D3 WO 01/94541 A (University of South Florida) 13. Dezember 2001
- D4 US 5,197,985 A (Caplan A. I. & Haynesworth S. E.) 30. März 1993
- D5 Amersham Biosciences Handbook "Percoll: Methodology and Applications", 2001
URL:<<http://www.cellseparation.nu/media/18-1115-69AC.pdf>>

Zu Punkt I

Grundlage des Bescheides

Die mit Schreiben von 10. Oktober eingereichten Ansprüche sind zulässige (Artikel 34(2)(b) PCT):

Zu Punkt V

Begründete Feststellung hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

D1 offenbart die Isolierung mesenchymaler Stammzellen (MSC) durch Dichtgradientenzentrifugation mit einer Dichte von 1,063 g/ml (Seite 52). Gemäss eine besonders bevorzugte Ausführungsform der Erfindung sind Zellen mit eine Dichte von 1,068 g/ml isolieren (Anspruch 3, Fraktion F3 in Figur 3); D1 hinweist eine Dichte von 1,063 g/ml (wie F2 in Figur 3) anzuwenden und wird demnach als nächstliegender Stand der Technik angesehen (D2: 1,045-1,055 g/ml). Beispiel 5 im D1 zeigt Hundezellen; Hunde ist aber nur ein Tiermodell und das Ziel der D1 mit humaner MSC (hMSC) und humaner Therapie liegt (siehe Seite 3-7 und Beispiel 3). Bei der Isolierung von Zellen aus verschiedenen Spezies müssen vielleicht verschiedenen Dichten verwendet werden; solche Verschiedenheiten verhindern aber der Fachmann nicht, Tiermodellen zu verwenden. Aufgrund üblichen Praxis und ohne erfinderisches Zutun würde der Fachmann, der Zellen einer anderer Spezies isolieren wollte, erst dieselbe Dichte von 1,063 g/ml anwenden und dann mit verschiedenen Dichten erproben, um die Isolierung zu optimieren. Der Gegenstand der Ansprüche 1-7 beruht daher nicht auf einer erfinderischen Tätigkeit (Artikel 33(3) PCT).

D2 offenbart die Isolierung hMSC im Verbindung mit Megakaryozyten durch Dichtgradientenzentrifugation mit einer Dichte von 1,045 bis 1,055 g/ml (Spalte 4). Die hMSC, die im Beispiel 1 C mit 1,073 g/ml Percoll isoliert werden, sind als Referenz verwenden (siehe Spalte 4, 2. Absatz) und darstellen der

Erfindung von D2 nicht. MSC gemäss D2 sind mit Megakaryozyten verbunden; es ist aber möglich, die MSC zu reinigen (Spalte 3, 4. Absatz–Spalte 4, 1. Absatz; Spalte 5, Zeilen 20-28), oder die Zellverbänden im Therapie zu benutzen (Spalte 7, Zeilen 34-41). Es ist in den vorliegenden Ansprüchen *nicht* ausgeschlossen, dass ein Präparat gemäss Anspruch 5 auch Megakaryozyten enthielt, oder dass mehrere Schritte zur Isolierung *reinen* hMSC in einem Verfahren gemäss Anspruch 1 notwendig wäre. Der Gegenstand der vorliegenden Ansprüche 1, 2 und 4-6 beruht nicht auf einer erfinderischen Tätigkeit über D2 (Artikel 33(3) PCT).

D3 offenbart die Isolierung mesenchymalen Progenitorzellen (MPC) aus Dexter-Stromakultur durch Dichtgradientenzentrifugation mit 30-50% Percoll (Seite 30), d.h. einer Dichte von 1,04-1,06 g/ml (siehe D5, Figur 5). Diese MPC unterschieden sich von MSC (siehe S. 28) und D3 hinweist also der Fachmann nicht, hMSC bei eine Dichte von 1,04-1,06 g/ml zu isolieren.

D4 offenbart die Isolierung hMSC durch eines kontinuierlichen Dichtgradienten aus 70% Percoll. MSC sind in eine gepoolte Fraktion mit 1,03 g/ml Dichte gefunden, während andere Fraktionen 1,10 g/ml bzw. 1,14 g/ml gepoolte Dichte haben. Dieses hinweist der Fachmann nicht, hMSC bei eine Dichte von 1,050-1,070 g/ml zu isolieren.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Isolierung humaner mesenchymaler Stammzellen aus Knochenmark durch Dichtegradientenzentrifugation, dadurch gekennzeichnet, daß man die Zellen aus einer Fraktion mit einer Dichte von 1,050 - 1,070 g/ml isoliert.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man zur Durchführung der Dichtegradientenzentrifugation eine isotonische Lösung von Ficoll® oder Percoll® verwendet.
3. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß man Percoll® verwendet und die Dichte 1,068 g/ml beträgt.
4. Mesenchymale Stammzellen, erhalten nach einem Verfahren der Ansprüche 1 bis 3.
5. Pharmazeutisches Präparat, enthaltend Zellen nach Anspruch 4.
6. Verfahren zur Herstellung eines mesenchymale Stammzellen enthaltenden pharmazeutischen Präparats, dadurch gekennzeichnet, daß man ein Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 3 durchführt und man die isolierten Stammzellen gegebenenfalls mit pharmazeutisch annehmbaren Hilfs- und Trägerstoffen formuliert.
7. Verwendung einer Lösung von Ficoll® oder Percoll® der Dichte 1,068 g/ml zur Durchführung einer Dichtegradientenzentrifugation zur Isolierung mesenchymaler Stammzellen aus Knochenmark.